

LATENTNA TUBERKULOZNA INFEKCIJA

IVAN PAVIĆ*

Tuberkuloza (TBC) je globalni javno-zdravstveni problem. Procjenjuje se da je 1/3 svjetskog stanovništva inficirano s Mycobacterium (M.) tuberculosis, većina kao latentna tuberkulozna infekcija (LTBI). Osobe s LTBI imaju vjerojatnost za obolijevanje od aktivne TBC tijekom života od 10%, pa su rezervoar budućih bolesnika. Prema tome, točna dijagnoza i liječenje LTBI su bitni za kontrolu i eradicaciju TBC. Dijagnostika LTBI predstavlja poseban problem, jer za njenu dijagnozu ne postoji zlatni standard. Do nedavno je tuberkulinski kožni test (TST) bio jedini dostupan dijagnostički test za dijagnozu LTBI unatoč dobro poznatim ograničenjima u primjeni. Napredak u znanstvenim spoznajama pridonio je razvoju novih dijagnostičkih metoda, tzv. testova oslobađanja interferona gama (IGRA), kojima se potiče oslobađanje IFN- γ iz limfocita T nakon in vitro stimulacije antigenima specifičnim za M. tuberculosis. Zbog veće specifičnosti u odnosu na TST, IGRA-testovi se preporučuju u mnogim nacionalnim programima zemalja niske incidencije TBC. Ovdje su sažete najnovije spoznaje o imunologiji i dijagnostici LTBI, s naglaskom na postojeće izazove i ograničenja.

Deskriptori: LATENTNA TUBERKULOZNA INFEKCIJA, IMUNOLOGIJA, TUBERKULINSKI KOŽNI TEST, TEST OSLOBAĐANJA INTERFERONA-GAMA

Skratice:

BCG - Bacil Calmette-Guérin; CD - razlikovno obilježje (eng. Cluster of Differentiation); CDC - Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (eng. Center for Disease Control and Prevention); CFP-10 - protein 10 filtrata kulture (eng. Culture Filtrate Protein-10); ECDC - Europski centar za prevenciju i kontrolu bolesti (eng. European Centre for Disease Prevention and Control); ELISA - enzimski vezan imunosorbent test (eng. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay); ELISPOT - enzimski vezan imunospot test (eng. Enzyme-Linked Immunospot Assay); ESAT-6 - rano-sekretorna antigenična ciljna specifična T-stanica-6 (eng. early secretory antigenic target-6-specific T cell); HLA - humani leukocitni antigen; IFN- γ - interferon gama (eng. Interferon Gamma); IGRA - test otpuštanja interferona gama (eng. Interferon Gamma Release Assay); IL - interleukin; LTBI - latentna tuberkulozna infekcija (eng. Latent Tuberculosis Infection); MHC - glavni kompleks tkivne podudarnosti (eng. Major Histocompatibility Complex); PHA - fitohemaglutinin (eng. phytohemagglutinin); PPD - purificirani proteinski derivat (eng. Purified Protein Derivative); QFT-GIT - QuantiFERON-TB Gold In Tube; SZO - Svjetska zdravstvena organizacija; TBC - tuberkuloza; TB7.7(p4) - tuberkulozni protein 7.7(p4); Th -

pomoćnički limfocit T (eng. T-helper lymphocyte); TNF- α - faktor tumorske nekroze alfa (eng. Tumor Necrosis Factor Alpha); TST - tuberkulinski kožni test (eng. Tuberculin Skin Test)

Uvod

Tuberkuloza (TBC) jest zarazna bolest uzrokovana humanim mikobakterijem tuberkuloze (*Mycobacterium (M.) tuberculosis*). Iako se smatralo da je bolest pod kontrolom, u zadnje se vrijeme ponovno pojavila kao jedan od glavnih javno-zdravstvenih problema, osobito u nerazvijenim zemljama. Prema izvješću Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) globalna incidencija TBC u 2011. godini je iznosila 125/10.000 stanovnika uz 8,7 milijuna novooboljelih (1). U Europi se postupno smanjuje broj oboljelih od TBC, pa se stopa incidencije od 2004. godine kada je iznosila 104/100.000 stanovnika smanjila na 42/100.000 stanovnika tijekom 2011. godine (1). Međutim, postoji velika razlika između zemalja zapadne i istočne Europe. Hrvatska pripada skupini zemalja sa srednje visokom incidencijom TBC-a koja je u 2012. god. iznosila 13/100.000 stanovnika, s uku-

pno prijavljenih 556 osoba novooboljelih, od toga 18 djece mlađe od 19 godina (2). S obzirom na to da se dijagnoza dječje TBC postavlja teže nego u odraslih osoba, stvarna proširenost TBC među djecom nije dovoljno poznata. Procjenjuje se da se TBC dječje dobi pojavljuje u oko 10% novooboljelih godišnje. U RH je incidencija TBC dječje dobi tijekom 2012. godine, po dobnim skupinama, bila: u dobi od 0-4 godine 2,1/100.000, u dobi od 5-9 godina 2,0/100.000, u dobi od 10-14 godina 1,1/100.000 te u dobi od 15-19 godina 1,7/100.000 stanovnika (2). Cilj javno-zdravstvenog djelovanja jest da se broj oboljelih smanji na manje od 10/100 000 stanovnika.

Procjenjuje se da je 1/3 svjetskog stanovništva inficirano s M. tuberculosis, većina kao latentna tuberkulozna infekcija (LTBI), uz vjerojatnost za obolijevanje od aktivne TBC tijekom života kod odraslih osoba s normalnim imunološkim odgovorom od 10% (3). Vjerojatnost aktivacije je veća u djece nego u odraslih i ovisna je o dobi: u dojenčadi je 43%, u djece u dobi od 1-5 godina iznosi 29%, a u djece od 11-15. godina iznosi 15% (4, 5).

*Klinika za dječje bolesti Zagreb

Adresa za dopisivanje:
Dr. sc. Ivan Pavić, dr. med.
Klinika za dječje bolesti Zagreb
10000 Zagreb, Klaićeva 16
E-mail: ipavic01@gmail.com

Većina slučajeva novootkrivene TBC u razvijenim zemljama s niskom incidencijom bolesti, posljedica je aktivacije LTBI, a ne recentne infekcije (6). Osobe s LTBI su rezervoar budućih bolesnika. Stoga na putu prema eradikaciji TBC nije dovoljno samo liječiti bolesnike koji boluju od aktivne bolesti, nego je nužno tražiti, dijagnosticirati i adekvatno liječiti osobe s LTBI. Također, među djecom je potrebno aktivno tražiti inficirane, poglavito unutar dvije skupine: djeca koja su bila u kontaktu s osobom oboljelom od aktivne tuberkuloze i djeca koja su tuberkulinski hiperreaktori otkriveni redovnim testiranjem tuberkulinskim kožnim testom (engl. *Tuberculin Skin Test*, TST) predviđenim obveznim programom cijepljenja. Aktivno traženje za latentno inficiranim osobama indicirano je i u novoj manjoj skupini djece - kandidata za liječenje anti-TNF- α protutijelima (infliksimab, adalumimab) ili fuzijskim bjelančevinama IgG/TNF- α receptora (etanercept). Poznato je da je TNF- α jedan od važnijih citokina potrebnih za aktivaciju i sazrijevanje makrofaga pa je moguće da se tijekom primjene anti-TNF- α terapije aktivira LTBI (7, 8). Preventivno djelovanje na razini LTBI smatra se jednim od presudnih čimbenika za rješavanje tuberkuloze kao globalnog javnozdravstvenog problema.

Definicija latentne tuberkuloze

Stanje koje nastaje nakon infekcije mikobakterijem tuberkuloze, u kojem bacil miruje, ne dijeli se i ne izaziva reakciju okolnog tkiva, te u kojem inficirani nema znakova bolesti niti je zarazan za okolinu definira se kao LTBI. U bilo kojem razdoblju tijekom života može doći do aktivacije klica i razvoja aktivne tuberkuloze. Velika nepoznanica u biologiji TBC-a je uspostavljanje i perzistencija latentnog oblika infekcije u kojem određeni broj mikobakterija može ostati "uspavan", ali viabilan tijekom mnogo godina.

Patomehanizam tuberkulozne infekcije

Mikobakteriji dospijevaju u organizam najčešće kapljičnom infekcijom u kontaktu s oboljelim koji kašlje, kiše ili

pjeva, premda su mogući i drugi iznimno rijetki oblici prijenosa. Iako bolest može zahvatiti bilo koji organ ljudskog tijela, najčešća ulazna vrata infekcije su pluća, koja su u do 90% slučajeva i sijelo kasnijeg razvoja bolesti (9). Udahnute bacile fagocitiraju alveolarni makrofagi i dendritičke stanice. Fagocitoza je potaknuta vezanjem mikobakterija za Toll-u slične receptore, imunoglobulinske i komplementne receptore makrofaga (10). Smatra se da vezanje mikobakterija za Toll-u slične i imunoglobulinske receptore pobuđuje imunoreakciju koja dovodi do destrukcije mikobakterija, dok se vezanjem za komplementne receptore pobuđuje reakcija koja nije učinkovita dovodeći do preživljenja fagocitirane klice (11, 12).

Nakon fagocitiranja bacila formira se fagosomsko-lizosomski kompleks u kojem su bacili izloženi djelovanju reaktivnih radikala kisika i dušika, te litičkih enzima iz lizosoma. Aktivaciju makrofaga, koja rezultira sintezom radikala i stvaranjem fagosomsko-lizosomskog kompleksa, potiču dva interleukina: interferon gama (IFN- γ) kojeg izlučuju senzibilizirani limfociti T nakon dodira sa zaraženim makrofazima i faktor tumorske nekroze alfa (TNF- α) kojeg izlučuju sami makrofagi (12). Ključnu ulogu u imunološkom odgovoru na M. tuberculosis ima aktivacija citotoksičnog oblika imunosti, kojeg ostvaruju pomagački CD4+ limfociti T tipa 1 (Th1) i citotoksični CD8+ limfociti T. Za aktivaciju limfocita T, te usmjeravanje i proliferaciju limfocita u tip Th1 važno je djelovanje interleukina (IL)-2 i IL-12, te IFN- γ . IFN- γ je najvažniji citokin u obrani od infekcije mikobakterijem. Djelovanje IFN- γ u obrani od infekcije mikobakterijem se očituje kroz povećanu ekspresiju molekula MHC, što pridonosi boljoj prezentaciji antigena, kroz povećanu ekspresiju imunoglobulinskih receptora čime je olakšana fagocitoza, te kroz privlačenje limfocita T i povećanje sinteze dušičnog oksida (13, 14). Stanični imuni odgovor na M. tuberculosis posredovan je i citotoksičnim limfocitima T, koji liziraju inficirane alveolarne makrofage i uništavaju unutarstanični bacil pomoću molekula perforina i granulizina (10). Mikobakterijski antigeni koji se oslobađaju razgradnjom u fago-

somsko-lizosomskom kompleksu vežu se za MHC-antigene klase II (eng. *major histocompatibility complex*, MHC II), te se na površini stanične membrane predočavaju CD4+ T-limfocitima, koji nakon senzibilizacije oslobađaju IFN- γ . Prepoznavanju pridonosi i sustav CD1 koji je manje specifičan od sustava MHC, ali je važan stoga što prepoznaje glikolipidne antigene mikobakterijske stijenke te aktivira nespecifičnu imunoreakciju pokrećući početno izlučivanje IFN- γ (15, 16).

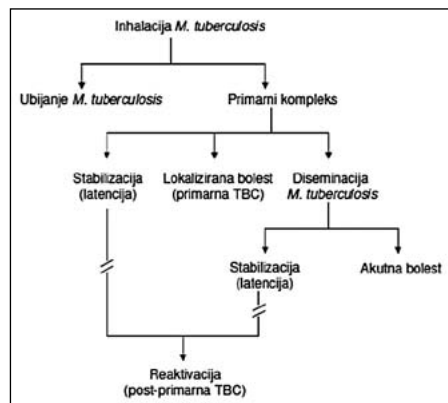
Tako povezuje početnu, nespecifičnu s kasnijom, specifičnom imunoreakcijom. IFN- γ se također oslobađa iz aktiviranih citotoksičnih CD8+ T-limfocita. To se događa nakon kontakta s kompleksima peptidnih fragmenata razgrađenih mikobakterijskih proteina i MHC-antigene klase I na staničnoj membrani (17). Iz tako aktiviranih citotoksičnih CD8+ T-limfocita oslobađaju se i proteolitički enzimi, koji dovode do raspada zaraženog makrofaga, a time i mikobakterija (18). Također vezanjem senzibiliziranih limfocita T na zaraženi makrofag, odašilje se signal kojim se zaustavljaju metabolički procesi u jezgri i citoplazmi što dovodi do propadanja zaraženog makrofaga, a time i do propadanja mikobakterija (19). Iz senzibiliziranih limfocita T oslobađaju se interleukini koji potiču migraciju makrofaga, limfocita T i limfocita B na mjesto infekcije, što u konačnici dovodi do stvaranja granuloma (19). Granulom se sastoji od makrofaga koji mogu formirati epitelioidne stanice ili multinuklearne orijaške stanice, od CD4+ i CD8+ limfocita T, te od limfocita B (20, 21). S formiranjem granuloma i uspješnim imunološkim odgovorom domaćina većina bacila tuberkuloze biva ubijena, a progresija bolesti zaustavljena (22). Utvrđeno je da neke osobine u mikrokolišu granuloma, kao što su hipoksija, niski pH, prisutnost dušičnog oksida, ugljikovog monoksida i drugih faktora, povećavaju ekspresiju nekoliko gena M. tuberculosis koji su uključeni u indukciju stanja latencije (23, 24). Imunost na M. tuberculosis razlikuje se između odraslih i djece time što je kod djece funkcija makrofaga i funkcija dendritičkih stanica nezrela, nepotpun je razvoj Th1-tipa T-stanične imunosti, te povećana sklonost dojenčadi i male djece da u reakciji

na imunogene podražaje odgovaraju Th2 CD4+ tipom stanične imunosti (25).

U većine osoba prirodni tijek infekcije s M. tuberculosis završava uspješnom aktivacijom imunološkog odgovora što dovodi do uništenja klice, iako su moguća još tri ishoda (Slika 1) (26). M. tuberculosis se odmah nakon infekcije može nastaviti umnožavati i rasti, uzrokujući primarnu tuberkulozu. Zatim je moguća latentna infekcija s M. tuberculosis, koja označava stanje perzistentnog imunološkog odgovora bez kliničkih znakova bolesti, a nije u potpunosti jasno da li je obvezno povezana s prisustvom viabilnih bacila (27). Moguće je da u određenom vremenu tijekom latentne infekcije dođe do množenja i rasta bacila M. tuberculosis, što uzrokuje klinički manifestnu bolest koja se označava kao postprimarna tuberkuloza. Odnos između imunoreakcije domaćina i mikrobnih faktora utječe na uspostavljanje i održavanje stanja latencije.

Dinamički model latentne tuberkulozne infekcije

LTBI je tradicionalno definirana kao infekcija s M. tuberculosis na mjestu unutar granuloma gdje ostaje u nereplicirajućem stanju, ali zadržava sposobnost da izađe iz stanja mirovanja i uzrokuje aktivnu TBC. Međutim, nedavni eksperimentalni podatci podržavaju dinamički model LTBI, po kojem se stalno odvija endogena reaktivacija i upalni odgovor (28). Model sugerira da za vrijeme rane faze infekcije tijekom koje se razvija



Slika 1. Kronologija zbivanja nakon inhalacije M. tuberculosis

granulom, M. tuberculosis raste unutar fagosoma. Neki se bacili, oslobođeni iz nekrotičnih makrofaga u izvanstanični prostor, prestaju razvijati zahvaljujući uvjetima koji tamo vladaju (acidoza, hipoksija i baktericidnih enzimi iz oštećenih imunih stanica). Zastoj bakterijskog rasta postoji i prije razvijanja učinkovitog imunološkog odgovora, a kada isti bude u potpunosti razvijen, aktivno rastući bacili bivaju uništeni, dok nereplicirajući bacili odolijevaju uništavanju i preživljavaju (28). Model nadalje ukazuje na ulogu pjenušavih makrofaga koji se pojavljuju tijekom kroničnog upalnog odgovora. Pjenušavi makrofagi fagocitiraju nereplicirajuće bacile M. tuberculosis iz izvanstaničnog prostora, koji se unutar aktiviranog makrofaga ne razvijaju, niti bivaju uništeni zahvaljujući neaktivnom stanju bacila (29). Prema dinamičkom modelu, nereplicirajući bacili unutar pjenušavih makrofaga neprestano se dreniraju prema bronhalnom stablu, dovodeći u osoba koje nemaju rizik od reinfekcije do postupnog uništenja bacila u želudcu, te do usporenog slabljenja latentne infekcije. Zahvaljujući udahnutom zraku neki drenirani nereplicirajući bacili mogu se vratiti u različite dijelove plućnog parenhima i u njima započeti upalni proces koji će dovesti do stvaranja novih granuloma. Ovaj dinamički model podržan je nedavnom norveškom studijom, koja je pokazala da se stopa reaktivacije tuberkuloze postupno smanjuje tijekom vremena (30).

Dijagnostika latentne tuberkulozne infekcije

Dijagnostika LTBI predstavlja poseban problem, jer za njenu dijagnozu ne postoji zlatni standard, a jedino je sigurna mogućnost kasnijeg razvoja aktivne TBC. Do nedavno je tuberkulinski kožni test (eng. *tuberculin skin test*, TST) bio jedini komercijalno dostupan imunološki test za dijagnozu tuberkulozne infekcije s poznatim ograničenjima u primjeni. Nova otkrića na području imunologije tuberkuloze pridonijela su razvoju novih dijagnostičkih metoda, tzv. testova oslobađanja interferona gama (engl. *Interferon Gamma Release Assays* - IGRA), kojima se s većom pouzdanošću može dijagnosticirati LTBI (31). U djece pri

sumnji na mogućnost LTBI potrebno je primijeniti testove *in vivo* - TST i *ex vivo* - IGRA.

Tuberkulinski kožni test

TST je metoda *in vivo* koja se više od sto godina koristi u dijagnozi LTBI. Osnova TST-a je mjerenje reakcije odgođene preosjetljivosti 72 sata nakon intradermalne aplikacije 2 jedinice pročišćenog proteinskog derivata (PPD) na volarnoj strani podlaktice (32). Naime, PPD koji čini slabo definirana smjesa mikobakterijskih antigena u spomenutom vremenu potiče memorijske i efektorske limfocite T te makrofage na izlučivanje više specifičnih interleukina u tijeku odgođene reakcije preosjetljivosti. Veličina reakcije na mjestu aplikacije proporcionalna je jačini imunskog odgovora. Pozitivan nalaz PPD-a može se očekivati ako je prošlo od dva do osam tjedana nakon infekcije M. tuberculosis. Na ishod reakcije utječu čimbenici poput BCG-cijepljenja i ranije izloženosti netuberkuloznim mikobakterijama. Budući da otopina PPD-a sadrži više od 200 proteinskih komponenti koje su zajedničke većini mikobakterija, TST može dati lažno pozitivne rezultate u osoba koje su cijepljene BCG-cjepivom ili su bile u kontaktu s netuberkuloznim mikobakterijama (33, 34).

Čimbenici koji smanjuju specifičnost testa su subjektivnost pri očitavanju reakcije, različite granične vrijednosti za određivanje pozitivnog TST-a, te sama heterogenost sadržaja PPD-pripravka. U testu se ne koristi pozitivna kontrola, pa su mogući lažno negativni rezultati. Tako je poznato da TST može dati lažno negativan rezultat u određenoj skupini bolesnika s oštećenom ili nezrelom staničnom imunosti, a koji su pod rizikom za razvoj aktivne tuberkuloze, primjerice bolesnici inficirani humanim imunodeficientnim virusom (HIV), bolesnici s jatrogeno uzrokovanom imunosupresijom, te djeca manje životne dobi (35).

Laboratorijska dijagnostika latentne tuberkulozne infekcije

Posljednjih se godina u području laboratorijske dijagnostike LTBI koriste

testovi poznati kao IGRA testovi. Riječ je o testovima ex vivo kojima se, u osoba inficiranih bakterijom *M. tuberculosis*, potiče oslobađanje IFN- γ iz limfocita T nakon inkubacije antigenima specifičnim za *M. tuberculosis* kao što su ESAT-6, CFP-10 i TB7.7(p4) (36). S obzirom na to da specifični antigeni iz IGRA testova nisu prisutni niti u jednom BCG-soju, niti u većine netuberkuloznih mikobakterija, mogućnost pojave lažno pozitivnih rezultata svedena je na najmanju moguću mjeru (34). Na tržištu su prisutna dva komercijalna testa: QuantiFERON-TB Gold In Tube (QFT-GIT, Cellestis Ltd, Carnegie, Australija) i T-SPOT.TB (Oxford Immunotec Ltd, Oxford, Velika Britanija). Razlikuju se prema uzorku koji koriste i prema načinu mjerenja oslobođenog IFN- γ . QFT-GIT - testovi koriste kao uzorak punu krv i određuju koncentraciju IFN- γ metodom ELISA. T-SPOT.TB koristi izolirane limfocite i enzimskom imunospot metodom (eng. enzyme-linked immunosorbent spot, ELISPOT) određuje broj stanica koje izlučuju IFN- γ .

Velika prednost IGRA-testova je mogućnost određivanja negativne i pozitivne kontrole. Negativna kontrola daje uvid u količinu IFN- γ koji je prisutan u cirkulaciji neovisno o podražajima ex vivo. Pozitivna kontrola s mitogenikom fitohemaglutininom (PHA) koristi se za provjeru sposobnosti limfocita T da na adekvatan podražaj oslobode IFN- γ , te za provjeru ispravnosti postupanja s uzorkom kako bi se izbjegli mogući lažno negativni rezultati (37). Naime, poznato je da neki terapijski postupci i neka oboljenja koja oštećuju funkciju imunološkog sustava potencijalno smanjuju oslobađanje IFN- γ , pa primjena pozitivne kontrole sprječava dobivanje lažno negativnih rezultata. Pozitivna svojstva IGRA-testova su visoka dijagnostička osjetljivost i specifičnost, reproducibilnost, mogućnost standardizacije, a opetovano izvođenje testa nema utjecaj na ishod testa (38).

Pozitivitet QFT-GIT-testa temelji se na koncentraciji IFN- γ od 0,35 IU/L koja se, iako je utvrđena za odrasle, prema preporukama proizvođača primjenjuje i u djece (39). Tako su neki autori, pretpostavljajući da mlađa djeca stvaraju pro-

sječno manje IFN- γ , predlagali korekciju granične vrijednosti za djecu mlađe životne dobi. Nedavno objavljena istraživanja, u djece mlađe od 5 godina, pokazala su da dob djeteta nema utjecaja na koncentraciju IFN- γ te da se IGRA-testovi mogu primijeniti i u djece najmlađe životne dobi, odnosno da osjetljivost IGRA-testova ne bi trebala biti smanjena u male djece (40, 41). Očekivalo se kako će se IGRA-testovima moći pratiti uspjeh liječenja, kako LTBI tako i aktivne tuberkuloze. Međutim, većina djece nakon provedenog liječenja i nadalje ima pozitivan rezultat testa (42).

Istraživanja primjene IGRA-testova ukazala su na pojavu neodredivih rezultata, odnosno stanja kada nije moguće odrediti koncentraciju IFN- γ . Ova stanja nastaju kada je koncentracija IFN- γ u cirkulaciji povećana (negativna kontrola >8 IU/L), kada je nedovoljan broj limfocita T ili kada je smanjena njihova sposobnost otpuštanja IFN-g (pozitivna kontrola <0,5 IU/L). Udio neodredivih rezultata razlikuje se među pojedinim istraživanjima i varira od 0-16% (37, 40, 43). Najčešći razlozi za njihovu pojavnost su dob djece i tehničke pogreške prilikom uzorkovanja i postupanja s uzorcima. S pojavom neodredivih rezultata u dječjoj dobi, slično kao i u odraslih osoba, povezuju se transplantacija organa, primjena imunosupresivnih lijekova, maligne bolesti, primarne imunodefijencije, akutna tuberkuloza, pneumonija, limfocitopenija (posebice smanjen broj CD4+ stanica), atopija i primjena b-laktamskih antibiotika (37, 44). Ako se pojavi neodredivi rezultat preporuča se testiranje ponoviti. Ukoliko je i kontrolni nalaz neodrediv potrebna je daljnja dijagnostička obrada da bi se utvrdio mogući uzrok bilo smanjene koncentracije IFN- γ nakon stimulacije mitogenikom PHA, bilo povećane koncentracije IFN- γ u negativnoj kontroli (44).

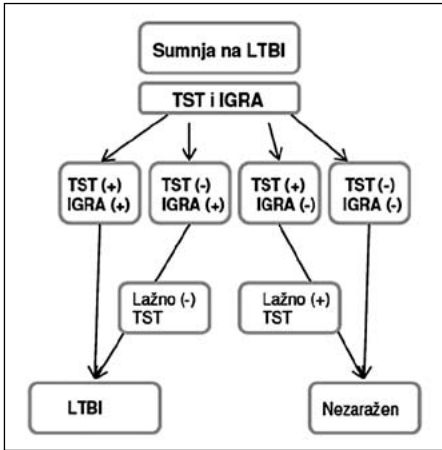
Iako se istraživanja o primjeni IGRA-testova u djece još uvijek provode, rezultati su ohrabrujući, te se BCG-iranoj djeci s većom pouzdanošću može dijagnosticirati LTBI. Nacionalne preporuke kao i preporuke stručnih društava za primjenu IGRA- testova u dijagnostici LTBI značajno se razlikuju, ali se slažu da će konačna procjena IGRA-testova

biti moguća nakon višegodišnje primjene.

Američki Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (eng. *Centers for Disease Control and Prevention, CDC*) u svojim preporukama iz 2010. godine predlaže da se u dijagnostici LTBI, IGRA-testovi koriste umjesto TST-a u svim dobnim skupinama, posebno u osoba koje su primile BCG-cjepivo, osim kod djece mlađe od pet godina, kod kojih se zbog nedostatka adekvatnih studija preporuča TST u kombinaciji s IGRA-testom (45). Europski Centar za prevenciju i kontrolu bolesti (eng. *European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC*) u svom izvješću iz 2011. godine nije preporučio rutinsku primjenu IGRA-testova kod djece zbog nedostatnosti adekvatnih istraživanja, no navode da je moguća njihova primjena za potvrdu pozitivnih nalaza TST-a, odnosno kod djece koja su primila BCG-cjepivo (46). Hrvatski Naputak za suzbijanje i sprečavanje tuberkuloze predlaže da sve kontakte s PPD reakcijom promjera ≥ 10 mm treba obavezno testirati i IGRA-testom (47).

Interpretacija rezultata

Rezultate testova treba interpretirati uzimajući u obzir detaljne anamnestičke podatke o mogućim infektivnim rizicima za pojavu LTBI, jer su oni presudni za pojavnost tuberkulozne infekcije (Slika 2). Interpretacija rezultata je najjednostavnija kad su oba testa sukladna te je dijagnoza LTBI potvrđena kad oba testa imaju pozitivan rezultat, odnosno dijagnoza LTBI je isključena kad su oba testa negativna. U djece s TST-pozitivnom / IGRA-negativnom nesukladnošću, najvjerojatnije je riječ o lažno pozitivnom rezultatu TST-a. Ako epidemiološki pokazatelji upućuju na moguću infekciju, ponavljanje IGRA-testa može biti korisno za pouzdanu dijagnozu, odnosno razlučivanje dvojbe je li pozitivan TST posljedica lažno pozitivne reakcije ili infekcije bakterijom *M. tuberculosis*. Djeca s TST-negativnom / IGRA-pozitivnom nesukladnošću rezultata vrlo vjerojatno su stvarno inficirana bakterijom *M. tuberculosis*, odnosno imaju LTBI i u skladu s time trebaju biti odgovarajuće liječena.



Slika 2. Dijagnosticiranje LTBI pomoću TST i IGRA

Liječenje (kemoprofilaksa) latentne tuberkulozne infekcije

Prema hrvatskom Naputku za suzbijanje i sprečavanje tuberkuloze iz 2010. godine liječenje LTBI u djece provodi se izoniazidom tijekom 6 mjeseci, svakodnevno u dozi od 5 mg/kg (47). Ukoliko je dijete bilo u kontaktu s oboljelim od tuberkuloze rezistentne na izoniazid, tada se kemoprofilaksa LTBI provodi rifampicinom tijekom 4 mjeseca u dozi od 10 mg/kg. Poznato je da lijekovi koji se koriste za kemoprofilaksu LTBI mogu imati neželjene nuspojave od kojih je najčešća pojava i progresija patoloških nalaza funkcije jetre, što znatno može utjecati na pridržavanje režima preporučene kemoprofilakse. Utvrđeno je da duljina trajanja primjene lijeka smanjuje suradljivost u adekvatnom provođenju preporučene kemoprofilakse, te je utvrđena stopa dovršetka primjene izoniazida od 30-64%, što znatno ograničava njegovu

Tablica 1. Terapijske sheme liječenja LTBI

TERAPIJA	DJELOTVORNOST (u usporedbi s placebom)
izoniazid 6 mj.	69%
rifampicin 4 mj.	65%
izoniazid 9 mj.*	90%
izoniazid 12 mj.*	93%
izoniazid i rifampicin 3 mj.*	69%
rifampicin i pirazinamid 2 mj.*	90-93%

*navedene terapijske sheme nisu u skladu s Nacionalnim naputkom za suzbijanje i sprečavanje tuberkuloze

djelotvornost (48). S ciljem poboljšanja suradljivosti pacijenata i učinkovitosti kemoprofilakse razvijaju se kraće terapijske sheme (Tablica 1), ali se kod nas još ne preporučavaju u djece s LTBI.

Zaključak

Aktivno traženje i liječenje osoba s LTBI predstavlja put ka eradikaciji TBC. Novije dijagnostičke metode preciznije dijagnosticirajući LTBI suzuju potrebu provođenja preventivne terapije i doprinose uvođenju dijagnostičkih kriterija za njezinu primjenu. U složenom postupku dijagnosticiranja LTBI, kada postoje nesukladni rezultati TST i IGRA-testa, primjena IGRA-testa može biti ključna u odluci hoće li se kod određenog djeteta primijeniti preventivna terapija (iako je TST negativan) ili će se upravo temeljem negativnog IGRA-testa (iako je TST pozitivan) izbjeći nepotrebna kemoprofilaksa. U tom smislu IGRA-testovi doprinose boljoj i preciznijoj zahtjevnoj dijagnostici LTBI.

Autor izjavljuje da nije bio u sukobu interesa. Author declare no conflict of interest.

LITERATURA

1. WHO. Global tuberculosis report 2012. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75938/1/9789241564502_eng.pdf.
2. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Hrvatski zdravstveno-statistički ljetopis za 2012. godinu. <http://hzjz.hr/wp-content/uploads/2013/11/Ljetopis-2012.pdf>
3. Rothel SJ, Andersen P. Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev Anti Infect Ther* 2005; 3: 981-93.

4. Starke JR, Smith MHD. Tuberculosis. U: Feign RD, Cherry JD, ur. Textbook of pediatric infectious diseases. Philadelphia: WB Saunders Company; 1998; 1196-239.

5. Marais BJ, Pai M. Recent advances in the diagnosis of childhood tuberculosis. *Arch Dis Child*. 2007; 92: 446-52.

6. Horsburgh CR, Rubin EJ. Clinical practice. Latent tuberculosis infection in the United States. *N Engl J Med* 2011; 364: 1441-8.

7. Smith R, Cattamanchi A, Steingart KR et al. Interferon-gamma release assays for diagnosis of latent tuberculosis infection: evidence in immune-mediated inflammatory disorders. *Curr Opin Rheumatol* 2011; 23: 377-84.

8. Woodrick RS, Ruderman EM. Safety of biologic therapy in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2011; 7: 639-52.

9. Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS et al. The natural history of childhood intrathoracic tuberculosis: a critical review of literature from the pre-chemotherapy era. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8: 392-402.

10. Aberle N, Boranić M. Immunological aspects of tuberculosis in children. *Paediatr Croat* 2005; 49 (1): 102-6.

11. Zahrt TC. Molecular mechanisms regulating persistent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Microbes Infect* 2003; 5: 159-67.

12. Kaufman SHE. How can immunology contribute to the control of tuberculosis? *Nature Rev* 2001; 1: 20-30.

13. Cooper AM, Khader SA. The role of cytokines in the initiation, expansion, and control of cellular immunity to tuberculosis. *Immunol Rev* 2008; 226: 191-204.

14. Ahmad S. Pathogenesis, immunology and diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Dev Immunol* 2011; 2011: 814943.

15. Kang SJ, Cresswell P. Saposins facilitate CD1d-restricted presentation of an exogenous lipid antigen to T cells. *Nat Immunol* 2004; 5: 175-81.

16. Barral DC, Brenner MB. CD1 antigen presentation: how it works. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 929-41.

17. Raja A. Immunology of tuberculosis. *Indian J Med Res* 2004; 120: 213-32.

18. Cho S, Mehra V, Thoma-Uszynski S et al. Antimicrobial activity of MHC class I-restricted CD8+ T cells in human tuberculosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 12210-5.

19. Tufariello JM, Chan J, Flynn JL. Latent tuberculosis: mechanisms of host and bacillus that contribute to persistent infection. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 578-90.

20. Gonzalez-Juarrero M, Turner OC, Turner J, Marietta P, Brooks JV, Orme IM. Temporal and spatial arrangement of lymphocytes within lung granulomas induced by aerosol infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 2001; 69: 1722-8.

21. Russell DG. Who puts the tubercle in tuberculosis? *Nat Rev Microbiol* 2007; 5: 39-47.

22. Cooper AM. Cell-mediated immune responses in tuberculosis. *Ann Rev Immunol* 2009; 27: 393-422.

23. Rustad TR, Sherrid AM, Minch KJ, Sherman DR. Hypoxia: a window into *Mycobacterium tuberculosis* latency. *Cell Microbiol* 2009; 11: 1151-9.

24. Kumar A, Deshane JS, Crossman et al. Heme oxygenase-1-derived carbon monoxide induces the *Mycobacterium tuberculosis* dormancy regulon. *J Biol Chem* 2008; 283: 18032-9.

25. Lewinsohn DA, Gennaro ML, Scholvinck L, Lewinsohn DM. Tuberculosis immunology in children: diagnostic and therapeutic challenges and opportunities. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8: 658-74.

26. Van Crevel R, Ottenhoff THM, van der Meer JWM. Innate Immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 294-309.

27. Mack U, Migliori GB, Sester M et al. LTBI: latent tuberculosis infection or lasting immune response to *M. Tuberculosis*? A TBNET consensus statement. *Eur Respir J* 2009; 33: 956-73.

28. Cardona PJ. A dynamic reinfection hypothesis of latent tuberculosis infection. *Infection* 2009; 37: 80-6.

29. Peyron P, Vaubourgeix J, Poquet Y et al. Foamy macrophages from tuberculous patients granulomas constitute a nutrient-rich reservoir for *M. tuberculosis* persistence. *PloS Pathogens* 2008; 4: 1-14.

30. Wiker HG, Mustafa T, Bjune GA, Harboe M. Evidence for waning of latency in a cohort study of tuberculosis. *BMC Infect Dis* 2010; 10: 1-10.

31. Pavić I, Čepin Bogović J. Test oslobađanja interferona gama u dijagnostici latentne tuberkulozne infekcije u djece. U: Pavlov N, Čulić S, Miše K, ur. *Prevenција i liječenje infekcija dišnog sustava*. Split: KBC Split, 2013; 301-9.

32. Lalvani A, Pareek M. A 100 year update on diagnosis of tuberculosis infection. *Br Med Bull* 2010; 93: 69-84.

33. Wang L, Turner MO, Elwood RK, Schulzer M, FitzGerald JM. A meta-analysis of the effect of bacille Calmette-Guerin vaccination on tuberculin skin test measurements. *Thorax* 2002; 57: 804-9.

34. Pavić I, Dodig S, Zrinski Topić R, Raos M. Interferon gamma release assay in a 12-month-old BCG-vaccinated infant with latent tuberculosis infection and isolated *M. fortuitum*. *Labmed* 2010; 41: 5-7.

35. Lalvani A, Thillai M. Diagnosis of tuberculosis: principles and practice of using interferon-g release assays (IGRAs). *Breathe* 2009; 5: 303-9.

36. Zrinski Topić R. Latent tuberculosis infection. *RAD HAZU* 2012; 37: 9-18.

37. Zrinski Topić R, Zoričić-Letoja I, Pavić I, Dodig S. Indeterminate results of QuantiFERON-TB Gold In-Tube assay in nonimmunosuppressed children. *Arch Med Res* 2011; 42: 138-43.

38. Amanatidou V, Syridou G, Mavrikou M, Tsolia MN. Latent tuberculosis infection in children: diagnostic approaches. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31: 1285-94.

39. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection. An interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 59-64.

40. Pavić I, Zrinski Topić R, Raos M, Aberle N, Dodig S. Interferon- γ release assay for the diagnosis of latent tuberculosis in children younger than 5 years of age. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: 866-70.

41. Debord C, De Lauzanne A, Gourgouillon N et al. Interferon-g release assay performance for diagnosing tuberculosis disease in 0- to 5-year-old children. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: 995-7.

42. Nenadić N, Kristić Kirin B, Zoričić Letoja I, Plavec D, Zrinski Topić R, Dodig S. Serial Interferon-g release assay in children with latent tuberculosis infection and children with tuberculosis. *Pediatr Pulmonol* 2011; 47: 401-8.

43. Bergamini BM, Losi M, Vaietti F et al. Performance of commercial blood tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. *Pediatrics* 2009; 123: 419-24.

44. Pavić I, Tješić Drinković D, Čepin Bogović J, Dodig S. Indeterminate result of interferon-gamma release assay in a child: review of literature with illustrative case. *Paediatr Croat*, [Epub ahead of print] DOI: <http://dx.doi.org/10.13112/PC.2014.9> 2014.

45. Centers for Disease Control and Prevention. Updated guidelines for using interferon gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection. United States. *MMWR* 2010; 59: 1-25.

46. European Centre for Disease Prevention and Control. Use of interferon-gamma release assays in support of TB diagnosis. Stockholm: ECDC, 2011.

47. Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi, Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Naputak za suzbijanje i sprečavanje tuberkuloze. 2. izd. Zagreb: Uvez d.o.o., 2010; 60-77.

48. Horsburgh CR Jr, Goldberg S, Bethel J, et al. Latent TB infection treatment acceptance and completion in the United States and Canada. *Chest* 2010; 137: 401-9.

Summary

LATENT TUBERCULOSIS INFECTION

I. Pavić

Tuberculosis (TB) is major global health problem. It is estimated that one-third of the world's population is infected with Mycobacterium(M.) tuberculosis, the vast majority with latent tuberculosis infection (LTBI). Persons with LTBI have a 10% lifetime risk for activation of TB, representing a huge reservoir of potential TB disease. Therefore, accurate diagnosis and treatment of LTBI is essential for TB control and eradication. Nevertheless, the diagnosis of LTBI remains complex, since there is no gold standard. Until recently, the tuberculosis skin test (TST) was the only available diagnostic test for detection of LTBI, despite its well-known limitations. Advances in scientific knowledge have led to the development of tests, known as interferon- γ release assays (IGRA), that measure the production of interferon- γ by T-cells stimulated in vitro with M. tuberculosis-specific antigens. IGRA, offering better specificity in the diagnosis of LTBI than TST, are now recommended in many national TB programs in low-endemic countries. Here, current data on immunology and diagnosis of LTBI are summarized, underscoring existing challenges and limitations.

Descriptors: LATENT TUBERCULOSIS INFECTION, IMMUNOLOGY, TUBERCULIN SKIN TEST, INTERFERON-GAMMA RELEASE ASSAY

*Primljeno/Received: 13. 2. 2014.
Prihvaćeno/Accepted: 11. 3. 2014.*